

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の申請について

○諮問・付議P1

【申請書・概要・計画書】

○鳥取大学医学部附属病院

自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討..... P5

○東海大学医学部

細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究.....P20



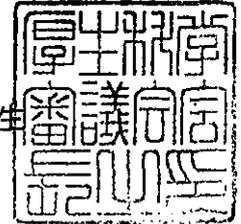
厚科審第11号
平成23年3月11日

科学技術部会部会長

永井良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠



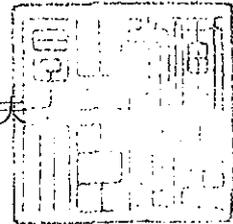
ヒト幹細胞臨床研究実施計画について（付議）

標記について、平成23年3月9日付け厚生労働省発医政0309第1号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発医政 0309 第 1 号
平成 23 年 3 月 9 日

厚生科学審議会会長
垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 細川 律夫



諮 問 書

下記のヒト幹細胞臨床研究実施計画について、その医療上の有用性及び倫理性に関し、厚生労働省設置法（平成11年法律第97号）第8条第1項イ及びヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（平成22年厚生労働省告示第380号）の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

1. 平成23年2月17日に金沢大学医薬保健研究域長から提出された「自己脂肪組織由来間質細胞を用いた再生医療に関する臨床研究-虚血性心不全に対して-」計画
2. 平成23年2月17日に金沢大学医薬保健研究域長から提出された「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法の臨床研究」計画
3. 平成23年2月28日に鳥取大学医学部長から提出された「自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討」計画
4. 平成23年3月3日に東海大学医学部長から提出された「細胞シートによる関節治療を日指した臨床研究」計画

厚科審第12号

平成23年5月18日

科学技術部会部会長

永井良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添忠生



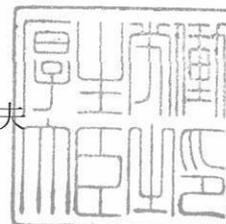
「ヒト幹細胞臨床研究実施計画について（付議）」の
一部取り消しについて（付議）

標記について、平成23年3月11日厚科審第11号をもって付議したところであるが、平成23年5月13日厚生労働省発医政0513第1号をもって厚生労働大臣より諮問の一部取り消しがあったので、貴部会における審議を一部中止願いたい。

厚生労働省発医政 0513 第 1 号
平成 23 年 5 月 13 日

厚生科学審議会会長
垣 添 忠 生 殿

厚生労働大臣 細川 律夫



諮問の一部取り消しについて

平成23年3月9日付で別添（写）のとおり諮問書（厚生労働省発医政 0309 第1号）を提出したところであるが、下記の2件のヒト幹細胞臨床研究実施計画について諮問後に当該計画を申請した研究施設について、研究費の不正受給（以下、「不正受給」という。）の報道がなされ、現時点において、事実関係及び当該計画に参画する関係者の関与の有無が確認できていない。

よって、下記の2件の計画にかかる諮問を取り消すこととする。

なお、当該計画の参画者が不正受給の関係者に含まれないことが確認され次第、再度諮問の手続きを行うこととする。

記

1. 平成23年2月17日に金沢大学医薬保健研究域長から提出された「自己脂肪組織由来間質細胞を用いた再生医療に関する臨床研究-虚血性心不全に対して-」計画
2. 平成23年2月17日に金沢大学医薬保健研究域長から提出された「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法の臨床研究」計画

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討
申請年月日	平成23年2月28日
実施施設及び研究責任者	実施施設：鳥取大学医学部附属病院 中山 敏
対象疾患	乳癌に対する乳房温存術後（術後1年以上経過した症例）の乳房変形
ヒト幹細胞の種類	ヒト皮下脂肪組織由来間質細胞（ADRCs）
実施期間、対象症例数	実施期間（平成25年3月31日まで）、5症例
治療研究の概要	<p>この臨床研究では、乳房温存術後の陥凹変形に対し、自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳房再建術を行い、治療の安全性、乳房形態への効果、生活の質への効果を検討、評価する。</p> <p>局所又は全身麻酔下に脂肪採取を行い、脂肪組織分離装置を用いてADRCsを得る。採取された細胞溶液と脂肪組織を混合し、注入用機器を用いて移植する。</p>
その他（外国での状況等）	<p>本治療法は、国内において九州中央病院・九州大学において実施されており、判断した理由19例の安全性・有効性が報告されている（RESTORE研究）。ヨーロッパにおいて本研究と同じADRCを用いた乳癌術後の70症例に対し、施行された乳房再建の試験であるRESTORE2のうち、半年を経過した32症例についてthe San Antonio Breast Cancer Symposium（2009）において有効性・安全性が発表された。</p>
新規性について	<p>本研究は、ADRCsを用いた本疾患に対する臨床研究として「ヒト幹細胞臨床研究実施計画」として初めての申請。本治療手技に関して申請機関に新規性がある。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 23 年 2 月 28 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	鳥取県米子市西町 86 番地 (郵便番号 683-8503)
	名称	鳥取大学医学部 0859-33-1111 (電話番号) 0859-38-7109 (FAX番号) (学務・研究課)
	研究機関の長 役職名・氏名	医学部長 井上 貴央 

下記のヒト幹細胞臨床研究について、別添のとおり実施計画書に対する意見を求めます。

記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
自己皮下脂肪組織由来細胞移植 による乳癌手術後の乳房再建法 の検討	鳥取大学医学部附属病院形成外科 准教授 中山 敏

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討		
研究機関			
名称	鳥取大学医学部		
所在地	〒 683-8503 鳥取県米子市西町86番地		
電話番号	0859-33-1111		
FAX番号	0859-38-7109(学務・研究課)		
研究機関の長			
役職	鳥取大学医学部長		
氏名	井上貴央		印
研究責任者			
所属	鳥取大学医学部附属病院形成外科		
役職	准教授		
氏名	中山 敏		印
連絡先	Tel/Fax	Tel: 0859-38-6711 / Fax: 0859-38-6711	
	E-mail	toprsri@med.tottori-u.ac.jp	
最終学歴	昭和63年3月 鳥取大学医学部医学科卒業		
専攻科目	形成外科学		
その他の研究者	別紙1-2参照		
共同研究機関(該当する場合のみ記載してください)			
名称			
所在地	〒		
電話番号			
FAX番号			
共同研究機関の長(該当する場合のみ記載してください)			
役職			
氏名			
臨床研究の目的・意義	<p>研究の背景</p> <p>乳癌術後の乳房再建には、自家組織移植あるいは人工物による再建がある。自家組織である有茎あるいは遊離皮弁移植においては、大きな手術侵襲・新たに生じる傷、人工物の場合、材質・拘縮・露出・感染などの問題がある。いずれも、大きな乳房組織欠損には適しているが、乳房温存術による部分的な陥凹変形には、推奨される方法がないのが実情である。組織欠損が小さい場合、自己の脂肪注入が行われることがある。しかし、従来の脂肪注入は、生着率が50%前後と低く、石</p>		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

灰化、嚢胞形成をしやすく、満足いく結果が得られていない。そこで、近年注目されているのが、自己皮下脂肪組織由来細胞移植である。この治療は、脂肪吸引で得られた脂肪組織から抽出・分離した自己の脂肪組織由来細胞を乳房内に注射し、乳房を再建する方法である。この方法は、自己の細胞を使用するため、拒絶反応が起こらず、従来の脂肪注入法と比較して、脂肪の生着率が90%前後と高く、石灰化を生じにくいと言われている。これは、一部の日本国内の臨床試験(乳癌術後患者を対象)において実施され、報告されているが、まだ一般的な治療法として安全性は確立されていない。

本研究の目的

本臨床研究では、自己脂肪組織由来細胞移植治療という新しい治療が、乳癌術後の乳房変形に問題を抱える患者の治療法として、安全であるか、また、治療により、乳房形態の改善と、患者のQOLの改善をさせる効果があるかを検討することを目的とする。

本研究の医学的・社会的意義

今回の移植は自己細胞を用いており、倫理的な側面、免疫拒絶反応の副作用などは障害とならないと考えられる。皮下脂肪は幅広い年齢層において回収可能であり、かつ骨髄細胞と異なり反復した組織採取が可能であるため、再生医療の細胞源として有望視されている。今回の臨床研究においてこの治療の有効性が充分確認されることにより先端医療として医学・社会に貢献し得ると期待される。

臨床研究の対象疾患

名称	乳癌に対する乳房温存術後(術後1年以上経過した症例)の乳房変形
選定理由	乳癌に対する乳房温存術後の乳房に陥凹変形を認める事により、QOLが著しく損なわれている症例に対し施行され、長期的な改善が認められればQOLの向上を図ることが可能であるため。

被験者等の選定基準

乳房温存術後1年以上経過した症例で、乳房に陥凹変形を認め、QOLが著しく損なわれている、局所再発および転移のない5症例。

研究の背景ならびに目的、方法、本臨床研究についての流れおよび経過、本臨床研究への参加で発生しうる効果・副作用・利益・不利益を十分に説明を受け、患者自らの意思および家族の理解に基づいて、細胞移植医療を希望する患者を対象とする。以下に、適応事項と適応除外事項を示す。

1) 適応事項

性別: 女性。妊娠中および妊娠の可能性のある女性を除く。

年齢: 20歳以上。原則として上限は設けない。患者個人の身体的条件により、“自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討”に関する小委員会において判断する。

2) 適応除外事項

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

合併症等により余命が1年以内と考えられる患者、過去3か月以内にアルコールもしくは薬物依存の既往のある患者、乳癌以外の悪性新生物を有する患者及び5年以内にその既往のある患者、別途規定の諸検査により悪性腫瘍の可能性があると判断された患者、重症の糖尿病性網膜症を有する患者、重症の心臓病を有する患者、その他同意を得られない患者。

“自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討”に関する小委員会が、適応事項と適応除外事項をもとに、適応対象に該当するか審査する。

3) 中止基準

移植治療前に患者の中止希望があった場合。

本臨床研究参加までに、“自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討”に関する小委員会が、不適と判断した場合。

本臨床研究に参加してから終了までに、局所的、全身的に異常を来した場合あるいは患者が本臨床研究の目的から逸脱した場合。

付記：“自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討”に関する小委員会は、鳥取大学形成外科、再生医療学、器官再生外科、麻酔・集中治療医学担当スタッフに属する医師で構成される。当委員会は、外科的分野、内科的分野、麻酔科的分野からの総合的な見地により、最終的に適応・不適応を判断する。各分野の役割を以下に示す。

外科的分野：形成外科、器官再生外科担当医

内科的分野：再生医療学担当医

麻酔・周術期分野：麻酔・集中治療医学担当医

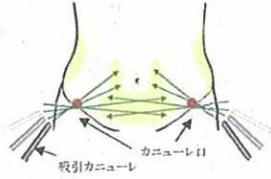
臨床研究に用いるヒト幹細胞

種類	ヒト皮下脂肪組織由来間質細胞 (Adipose tissue Derived Regenerative Cells : ADRCs)
由来	自己細胞 生体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>① 脂肪組織採取方法</p> <p>所要時間：約1時間、実施場所：手術室</p> <p>局所および全身麻酔下に、採取部位（腹部または臀部、大腿部）の皮下脂肪組織にチューメッセント液（麻酔溶液）（成分：生理食塩水1000ml+1%リドカイン（1%キシロカイン）2ml+0.1%アドレナリン（ボスミン）1.5ml+8.4%メイロン10ml）を適量注入する。その後、通常形成外科領域で用いられる専用のシリンジで脂肪組織を含む懸濁液を採取部位より吸引する。この際、シリンジには麻酔溶液と脂肪組織が混合された状態で吸引されるため、採取された検体総量のうち脂肪組織が約50～300ml採取されていることを確認する。</p> <p>② 脂肪組織処理方法 (ADRCsの分離)</p> <p>所要時間：約2～3時間、実施場所：手術室</p> <p>脂肪組織分離装置 (Celution® System : 米国Cytori Therapeutics, Inc) に滅菌</p>

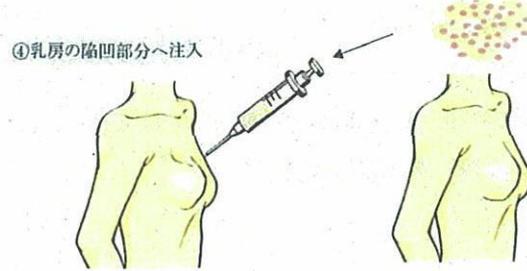
ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>済みディスプレイセットを装着し、採取した脂肪組織全量を脂肪組織収集容器内へ注入する。注入した脂肪組織を乳酸リンゲル液で洗浄する。その後、脂肪組織から細胞を分離する酵素(Celase TM)を加え、消化処理する。消化処理後の細胞懸濁液を遠心処理にて濃縮、酵素の洗浄を行い、ADRCsを採取する。採取された細胞溶液と洗浄後の脂肪組織を混合する。</p> <p>③ 移植方法</p> <p>所要時間:約1~2時間、実施場所:手術室</p> <p>セリューションシステム注入用機器(Celbrush; サイトリ・セラピューティクス社 別紙2)を用い、乳房の陥凹部に複数箇所注入する。</p>
調製(加工)行程	無
非自己由来材料使用	無
複数機関での実施	無
他の医療機関への授与・販売	無
安全性についての評価	<p>脂肪組織採取に関する安全性:</p> <p>脂肪吸引手技は、1980年代に美容医療領域において部分的痩身を目的に行われ始めており、最初の報告はIllouzが行っている(Plast Reconstr Surg 1983;72)。以来吸引手技や機器の進歩によりその安全性は向上してきた。脂肪吸引による局所的合併症としては、出血、感染、血腫貯留、神経損傷などがある。また全身的合併症としては肺塞栓症、脂肪塞栓症、肺水腫、リドカイン中毒が知られており、米国での1994年から1998年における調査では約50万例の脂肪吸引中、これらを原因とする死亡例が95例(約0.02%以下)あったと報告されている(Plast Reconstr Surg 2000;105)。しかし、上記の多くは痩身を目的として広範囲脂肪吸引が行われた、局所麻酔下における外来手術例である。今回実施する脂肪吸引手技は、あくまで脂肪組織由来間質細胞と移植脂肪の採取が目的であり、非侵襲的で丁寧な手技を要するため、合併症発症のリスクは非常に低いと考える。</p> <p>Celution® 装置およびディスプレイ製品の安全性:</p> <p>Celution装置の電気的安全性は、国際規格IEC 60601-1に適合し、また生物学的安全性は、国際規格ISO 10993-1に適合している。加えて、国際規格ISO 13485の品質基準を満たす工場にて製造されている。また、2007年に臨床用装置として欧州CE Markを取得している(別紙3参照)。本装置を用いた自己脂肪組織由来幹細胞治療については、本邦では九州大学および九州中央病院において乳房再建の臨床研究を実施し、重篤な副作用を含む不具合は報告されていない(日本美容外科学会会報、2008年、第30巻、151-160頁)。さらに乳癌細胞と分離装置で採取した間質細胞を培養してもがん細胞の有意の増加はなく、がん細胞増殖を促進させないことが示唆されている(the San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio, 2007)。脂肪組織移植に関しても発癌性に対する安全性が報告され</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>ている(Fraser JK in press)。</p> <p>酵素Celase™の安全性: 本装置の処理で使用している細胞分解酵素Celase™は、欧州CE Markを取得しており、(別紙3, 4参照)、安全性は確保されている。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>1)本治療法は、国内において九州中央病院・九州大学において実施されており、19例の安全性・有効性が報告されている(RESTORE研究)。</p> <p>現在までに有害事象の報告はない。</p> <p>2)ヨーロッパにおいて本研究と同じADRCを用いた乳癌術後の70症例に対し、施行された乳房再建の試験であるRESTORE2のうち、半年を経過した32症例についてthe San Antonio Breast Cancer Symposium (December 2009) において有効性・安全性が発表された。</p> <p>3) 前臨床安全性試験として、ブタによる検討を施行した(N=1)。</p> <p>ADRCを採取し、同個体皮下に細胞を移植し、28日間の健康状態・移植部位の観察を実施。また、観察期間終了後に移植部位・他臓器の肉眼的・顕微鏡的観察を施行するも異常所見は認められなかった。</p> <p>上記の臨床・前臨床試験の結果をふまえ、本試験に使用する細胞は培養プロセスを挟まない自己細胞であることから副作用の発生が極めて生じにくいと考えられ臨床試験が可能であると判断した。</p>
<p>臨床研究の実施計画</p>	<p>別紙5参照(計画書;鳥取大学医学部倫理委員会提出書類)</p> <p>① 術前処置:治療は手術部において、全身麻酔下に行う。清潔操作方法、および抗生物質等の投与は通常の外科的術式に準ずる。</p> <p>② 手術手順(本計画書)および標準作業手順書(別紙6参照)参照概略を下記に示す。</p> <div style="text-align: center; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px 0;"> <p>自己皮下脂肪組織由来細胞移植術の方法</p> </div> <p>①脂肪吸引</p> <div style="display: flex; align-items: center; margin: 10px 0;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 200px;"> <p>腹部・大腿部・臀部のいずれかから50-300mlの皮下脂肪を吸引します。</p> </div>  </div> <p style="text-align: center;">吸引した脂肪 →</p> <p>②皮下脂肪組織由来細胞を抽出</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin: 10px 0;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 150px;"> <p>濃縮した脂肪組織由来細胞</p> </div>  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 150px;"> <p>洗浄した脂肪細胞</p> </div> </div> <p>③ 脂肪組織由来細胞 と 脂肪細胞 を混合</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書



③ 評価項目

i. 主要評価項目

治療後6ヶ月および12ヶ月に、超音波検査で①乳房厚増加率、
乳房撮影用MRI検査で②乳房体積増加率を算出し評価する。

①治療部位の厚さ(大胸筋膜から乳房表面まで)の増加率

y = 術前、治療部位の厚さ(mm)

Y = 術後、治療部位の厚さ(mm)

乳房厚増加率 = $Y/y \times 100 - 100$ (%)

②乳房体積(大胸筋膜上の乳房体積)の増加率

c = 術前、健側乳房体積(cm^3)

tx = 術前、治療側乳房体積(cm^3)

C = 術後、健側乳房体積(cm^3)

eTX予測乳房体積 = $tx \times C / c$ (cm^3)

TX = 術後、治療側乳房体積(cm^3)

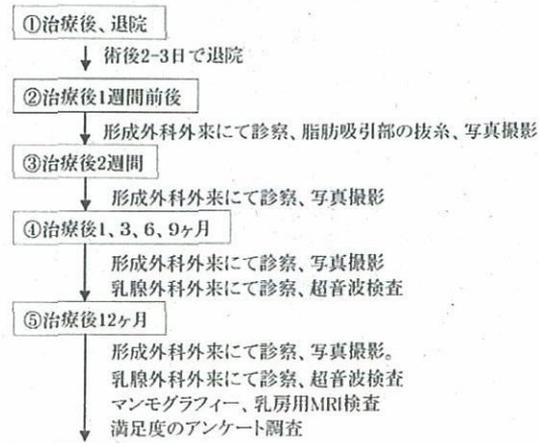
乳房増加体積 = $TX / eTX \times 100$ (%)

ii. 副次的評価項目

治療後12ヶ月に、被験者に対して、アンケートによる満足度評価を行う。

(別紙7参照)

④ 経過観察スケジュール



ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

研究の進捗状況

⑥臨床研究終了

被験者等に関するインフォームド・コンセント

<p>手続</p>	<p>説明書(別紙8)にて研究の背景ならびに目的、方法、本臨床研究についての流れおよび経過、本臨床研究への参加で発生しうる効果・副作用・利益・不利益を十分に説明し、患者自らの意思にて移植医療と本臨床研究への参加を希望する場合のみ施行する。また、脂肪組織由来細胞移植前に、患者より中止の意思が表明された際には直ちに臨床研究を中止する。</p>
<p>説明事項</p>	<p>説明書(別紙8)に従い、1)背景、2)目的、3)臨床研究の概要、4)方法、5)予想される経過、6)得られた効果の情報、7)臨床研究の流れ、8)本試験の副作用、危険性、9)代替治療法について、10)費用、11)予期される利益・不利益、12)同意と撤回について、13)不同意・同意撤回による不利益が生じない説明、14)個人情報の保護、15)利益相反、16)相談窓口の情報を説明する。</p>

単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者等とする臨床研究の場合

<p>研究が必要不可欠である理由</p>	<p>単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者としない。</p>
<p>代諾者の選定方針</p>	<p>単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者としないため、不要。</p>

<p>被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法</p>	<p>重篤な有害事象が発生した場合、研究責任医師および分担医師は、被験者の安全性の確保のため、必要に応じて医療処置等の適切な処置を講じる。また、研究責任医師は、速やかに医学部長、医学部倫理審査委員会に報告し、さらに厚生労働大臣への報告を行う。</p>
---------------------------------	---

<p>臨床研究終了後の追跡調査の方法</p>	<p>1)有害事象の有無を確認する。有害事象とは、脂肪組織由来細胞移植によって起こる合併症ならびに偶発症(別紙5 6. 患者の安全確保C,D,E,F参照)である。一般的な治療、全身麻酔および脂肪吸引によって起こる合併症ならびに偶発症(別紙5 6. 患者の安全確保A,B参照)を除く。</p> <p>2)皮下脂肪組織由来細胞移植術による治療後の全身状態と乳房形態の評価を行う。</p> <p>a)身体的所見:両側乳房、乳房陥凹変形を写真撮影し、部位・陥凹の大きさ・乳房の形態等を記録する。治療後1週間・2週間・1か月・3か月・6か月・9か月・12か月後に行う。</p> <p>b)検査所見:血液検査、超音波検査、乳房用MRI、マンモグラフィー等にて、乳房内腫瘍の有無、乳房形態を評価する。超音波検査は、1か月・3か月・6か月・9か月・12か月後、乳房用MRI・マンモグラフィーは12か月後に行う。</p> <p>3)満足度の評価:治療後12か月に質問(アンケート)票(別紙7)を、配布</p>
------------------------	---

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>郵送調査法で行う。</p> <p>1年間の臨床研究期間終了後も10年間を目安として保険診療行為として治療部位ならびに全身状態の把握を各関係部門と協力して行う。</p>
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	○ 有 無
補償が有る場合、その内容	自己皮下脂肪細胞由来細胞移植による乳房の再建治療実施に起因して被験者に健康被害が生じた場合は、適切な診察と治療を行う。また、この医療費については鳥取大学医学部附属病院校費が負担する。
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	保存用の検体(ADRC・血清・血漿・脂肪細胞)の保管は連結可能匿名化する。参加者を識別コードにて匿名可し、連結情報は、厳重な管理の下(パスワードを設置したコンピュータ、学内(形成外科学教室)にて責任者(中山敏)の責任の元、施錠して保管する。
その他	研究結果の公表においては、個人情報特定できない形で発表する。 研究目的で採取した「試料・情報」の解析結果の本人および家族・遺族等への開示は原則的に行う。
その他必要な事項 (細則を確認してください)	<p>①当該研究に係る研究資金の調達方法</p> <p>本臨床研究に関わる費用はすべて、鳥取大学医学部附属病院の研究資金で負担する。ただし、通常の一般診療に係る費用、入院費は患者自己負担となる。</p> <p>②既に実施されているヒト幹細胞臨床研究と比較して新規性が認められる事項</p> <p>本研究は"ヒト幹細胞臨床研究実施計画"に申請されるADRCsを用いた本疾患に対する臨床研究として本邦で初めての計画である。従来の方法は再建に脂肪組織のみを用い、他の細胞(幹細胞も含む)を移植しないが、本法は脂肪組織に大量に含まれるADRCを脂肪組織と同時移植することにより移植組織の長期維持が可能と考えられる点からも従来の治療に比し新規性がある。[同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況(別紙9)参照。]</p>

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格A4とすること。

備考2 本様式中に書ききれない場合は、適宜別紙を使用し、本様式に「別紙○参照」と記載すること。

添付書類(添付した書類にチェックを入れること)

- ✓ 研究者の略歴及び研究業績(別紙1-1参照)
- ✓ 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況(添付書類1)
- ✓ 臨床研究に用いるヒト幹細胞の品質等に関する研究成果(添付書類2)
- ✓ 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況(別紙9参照)
- ✓ 臨床研究の概要をできるだけ平易な用語を用いて記載した要旨(添付書類3)

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

- ✓ インフォームド・コンセントにおける説明文書及び同意文書様式(別紙8)
- ✓ その他(資料内容:標準作業手順書 (別紙6参照))
- ✓ その他(資料内容:倫理委員会提出書類一式))
- ✓ その他(資料内容:製品概要書・製品標準書などCelution® 装置に関する資料 (別紙3参照)
- ✓ その他(資料内容:Gelase1に関する資料 (別紙4参照))

臨床研究の概要をできる限り平易な用語を用いて記載した要旨

1、背景

乳癌術後の乳房再建には、自家組織移植あるいは人工物による再建があります。自家組織である皮弁移植は、手術が大きく、体の他の部位に新たな傷が生じます。人工物の場合、材質、拘縮、露出や感染などの問題があります。自己の脂肪注入が行われることがあります。従来は、自己脂肪注入では、生着率が 50%前後と低く、満足いく結果が得られていません。特に、乳房温存術による部分的な陥凹変形の場合、適した再建方法がないのが実情です。そこで、注目されているのが、自己皮下脂肪組織由来細胞移植です。脂肪組織由来細胞は、皮下脂肪組織に存在する間葉系細胞の一種で、成熟した脂肪細胞や血管の内皮細胞にも分化し、血管を備えた脂肪組織を構成するといわれています。自己皮下脂肪組織由来細胞移植は、脂肪の生着率が 90%と高く、石灰化を生じにくいといわれています。この治療法は、日本国内の一部の臨床試験(乳癌術後患者を対象)が報告されていますが、まだ一般的な治療法としては安全性が確立されていません。

2、目的

この臨床研究では、乳房温存術後の陥凹変形に対し、自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳房再建術を行います。そして、この治療が、乳房温存術後の乳房変形に対する治療法として、安全、そして効果があるかを以下の 3 点において評価します。

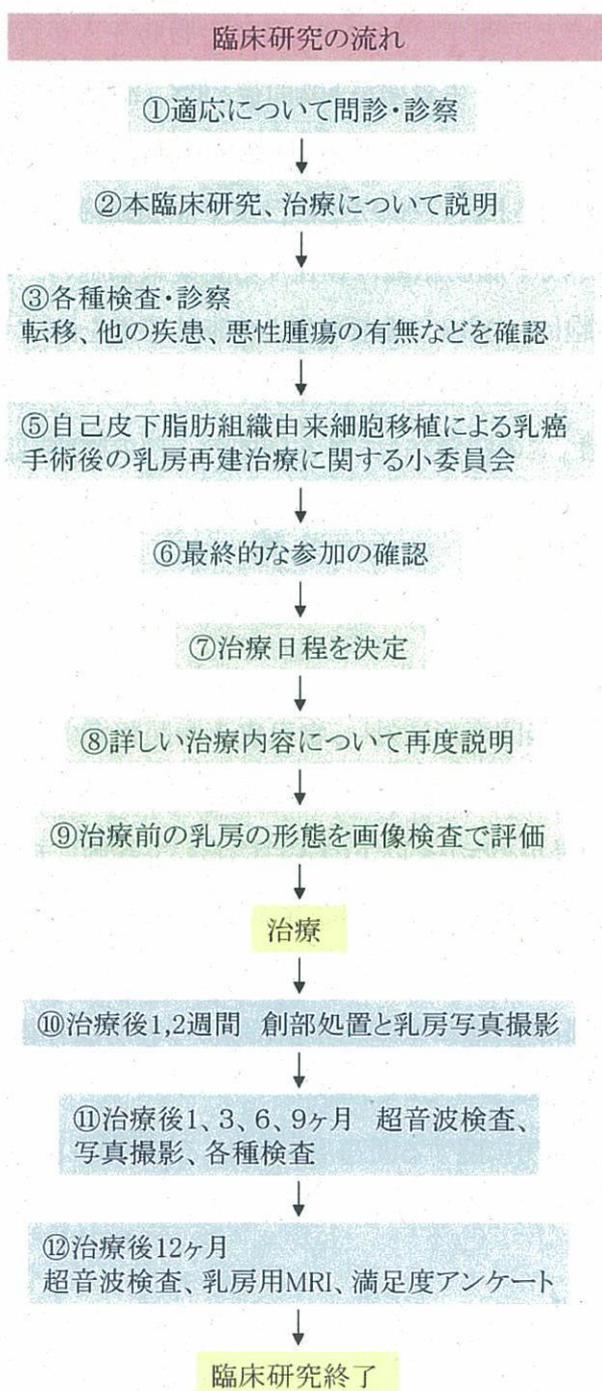
- ・ この治療によって脂肪組織由来細胞移植により、合併症および偶発症が発生しないか。
- ・ 乳房形態への効果：自己皮下脂肪組織由来細胞移植治療が、乳房温存術後の乳房変形などの乳房形態の問題点を改善するかどうか。
- ・ 生活の質への効果：乳癌術後の乳房に関する問題点から生じる精神的・肉体的な負担が軽減され、生活の質が改善されるかどうか。

3、臨床研究の対象と選定基準

- 1) 乳癌に対する乳房温存術後 1 年以上経過した、局所再発・転移のない 5 症例。

- 2) 20歳以上の女性。妊娠中および妊娠の可能性ある女性を除きます。
- 3) 被験者本人の同意が得られていること。
- 4) 『自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討に関する小委員会』の承認を得られていること。

4、臨床研究の流れ



臨床研究参加まで

『自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の乳房再建法の検討に関する小委員会』は、外科的、内科的および麻酔・周術期分野からの総合的な見地から、あなたが本臨床研究へ参加することが可能かどうかを判断します。

臨床研究参加～治療

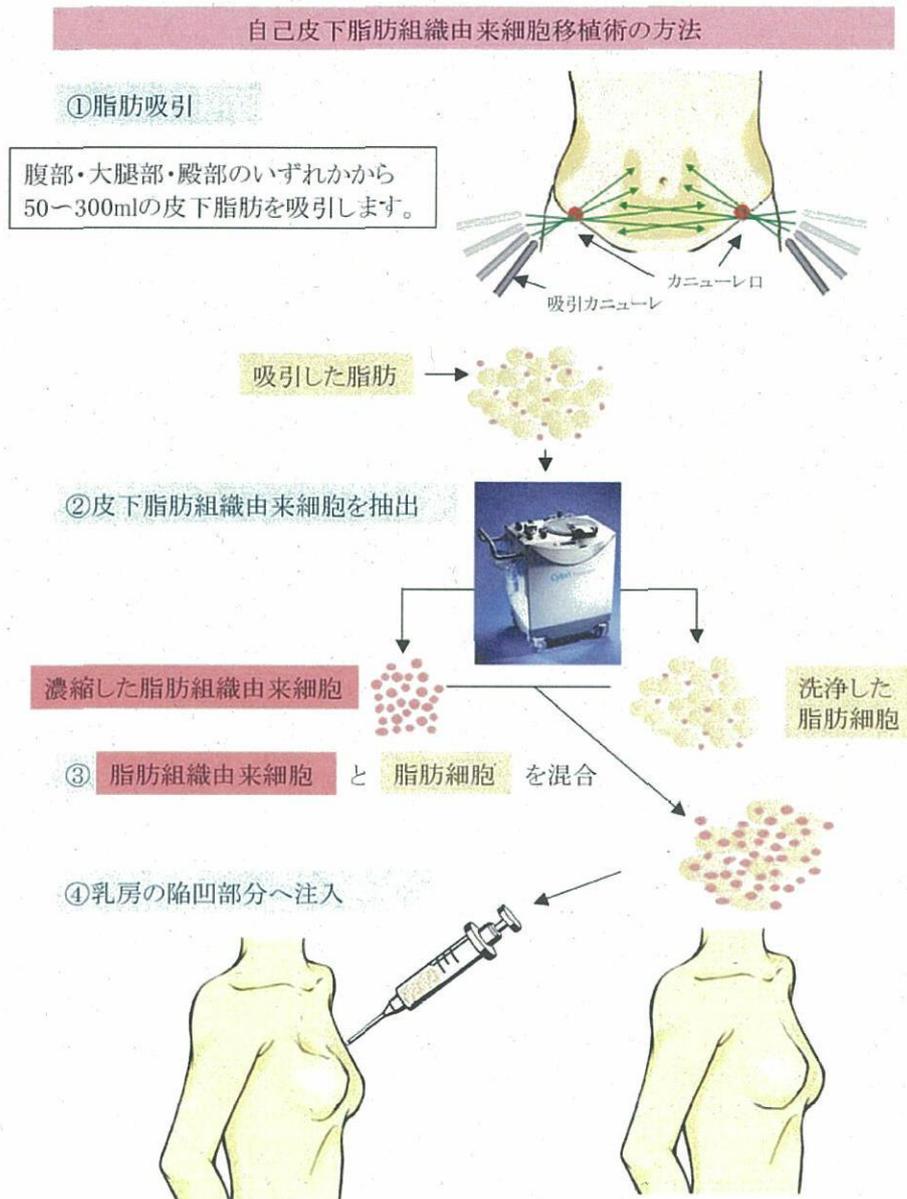
参加決定後、治療のための準備と検査を行います。治療の実際については、次頁を参照して下さい。

治療～臨床研究終了

治療後、12ヶ月の経過観察を行います。その間、治療の効果を評価するために、各種検査を行います。治療後12ヶ月目に最終評価(検査、ア

ンケート)を行い、本臨床研究は終了します。

5、自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳房再建の方法



①脂肪吸引を行います。吸引部位は腹部、大腿部、殿部のいずれかからで、50～300ml吸引します。1～2cmの皮膚切開を数カ所行い、そこから専用のカニューレを挿入し、脂肪を吸引します。吸引後、皮膚切開線を縫合します。

②吸引した脂肪を器械に入れ、濃縮した脂肪組織由来細胞を抽出し、洗浄した脂肪細胞を分離します。

③濃縮した脂肪組織由来細胞と必要量の脂肪細胞を混合し、混合液を作ります。

④混合液を乳房の陥凹部分に注入器で注入します。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究
申請年月日	平成23年3月3日
実施施設及び 研究責任者	実施施設：東海大学医学部 佐藤 正人
対象疾患	外傷または変性により生じた膝関節軟骨損傷
ヒト幹細胞の種類	軟骨細胞および滑膜細胞
実施期間、対象症例数	実施期間（試験開始から3年間）、10症例
治療研究の概要	膝関節軟骨損傷患者を対象として、関節内組織より単離した細胞を、温度応答性培養皿を用いて培養し、細胞シートを作製し、軟骨損傷が生じている部位へ移植する臨床研究。術前の関節鏡検査時に、上記診断を確定すると共に、滑膜と軟骨を少量採取し、セルプロセッシング室で細胞を単離後、温度応答性培養皿へ播種して細胞シートを作製する。安全性の評価を行うとともに、画像検査、病理検査にて軟骨再生の状態も評価する。
その他（外国での状況等）	自己細胞を使用した軟骨再生医療に関して、国外では既に20年近く前から研究が開始され、Genzyme社のAutologous Chondrocyte Implantation(ACI)は既に2万例近く世界で実施されている。国内では、広島大学で考案したアテロコラーゲンゲル包埋培養軟骨細胞移植法をJ-TEC社が治験をほぼ終了した段階にある。しかし、いずれも小さな軟骨欠損にのみ適用される問題点がある。
新規性について	細胞シートによる関節軟骨再生医療で、骨膜を使用しない新規性がある。変形性関節症で常に混在する全層欠損と部分損傷の両方での有効性を動物実験で確認している。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 23年 3月 3日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	神奈川県伊勢原市下糟屋143 (郵便番号259-1193)	
	名称	東海大学 医学部	0463-93-1121 (代表電話番号) 0463-96-4404 (FAX番号)
	研究機関の長 役職名・氏名	東海大学医学部 医学部長	今井 裕 

下記のヒト幹細胞臨床研究について、別添のとおり実施計画書に対する意見を求めます。

記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
細胞シートによる関節治療を目指した 臨床研究	東海大学医学部外科学系整形外科学 准教授 佐藤 正人 

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究		
研究機関			
名称	東海大学医学部		
所在地	〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143		
電話番号	0463-93-1121(内線 2320)		
FAX 番号	0463-96-4404		
研究機関の長			
役職	医学部長		
氏名	今井 裕		印
研究責任者			
所属	外科学系 整形外科		
役職	准教授		
氏名	佐藤 正人		印
連絡先	Tel/Fax	Tel:0463-93-1121(内線 2320)/ Fax:0463-96-4404	
	E-mail	sato-m@is.icc.u-tokai.ac.jp	
最終学歴	防衛医大学校 医学教育部 医学研究科		
専攻科目	整形外科		
その他の研究者	別紙 1 参照		
臨床研究の目的・意義	<p>本研究の目的： 膝関節軟骨損傷患者を対象として、関節内組織より単離した細胞を、温度応答性培養皿を用いて培養、細胞シートを作製し、軟骨損傷が生じている部位へ移植する。この新規治療法の客観的評価をプライマリーエンドポイントとして安全性を評価し、セカンダリーエンドポイントとして有効性を画像的・臨床的評価方法により実施することである。</p> <p>本研究の意義： 関節軟骨欠損を放置すると 10 年から 20 年の経過で変形性関節症(以下 OA)へ進行するとの見方が一般的である。OA は、関節の軟骨が変性・消失し痛みや機能障害を引き起こす疾患である。OA は直接生命を脅かす疾患ではないが、日常生活動作(ADL)に著しい障害を及ぼし健康寿命に多大な影響を与えている。また、日本では、膝関節だけでも OA を罹患している患者は 1000 万人以上と推定されており OA の克服は重要な課題である。疫学調査などから OA は遺伝的因子と環境因子の相互作用により発症する多因子遺</p>		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

伝病、生活習慣病であることが明らかとなってきた。変形性膝関節症は加齢や膝関節への負担により軽度の軟骨損傷が生じ、この軟骨損傷が拡大していくことによって生じる。軽度の軟骨損傷では自覚症状がない事が多いが、関節軟骨表面のけば立ち(fibrillation)程度の場合でも、粘弾性と潤滑に重要な役割を担っている軟骨細胞の細胞外基質(細胞外マトリックス)の変性が確認されており、軽度の軟骨損傷に対しても早期治療が望まれる。また、軟骨損傷が拡大して、高度の軟骨損傷となる場合、人工関節置換などの侵襲の大きな手術が必要となり、患者自身への負担は計り知れない。現在、中等度までの軟骨欠損に対しては、自己軟骨細胞移植が行われているが、正常部を2箇所犠牲にしなくてはならないこと、採取可能なドナー部位に限りがあること、高齢者では軟骨増殖能力が低いことなどの問題も指摘されており、新規の治療法の開発が待たれている。

我々は、以前より手術時に採取された軟骨組織・滑膜組織を用いて共培養することにより軟骨細胞シート作製に取り組み、軟骨細胞シートの特性やウサギ膝軟骨欠損に対する軟骨細胞シート・滑膜移植による研究を行っており有効性を確認してきた。細胞シートを積層化することにより、単層細胞シートと比べてCol2・fibronectin・SOX9・HAS2などの軟骨再生に重要な遺伝子の発現が上昇することや、動物モデルにおいて軟骨欠損に積層化細胞シートを移植することで良好な修復再生が生じることを確認した。また、我々は軟骨細胞シート作製時に滑膜細胞との共培養を行うことで細胞増殖能が上昇することを見出し、細胞シート作製までの期間の短縮に成功した。一方、移植された細胞シートの異所への移動等を否定するために、ルシフェラーゼトランスジェニックラットの細胞で作製した細胞シートを軟骨欠損部へ移植し、経時的に体外より発光強度をIVIS systemを用いて観察し、細胞シートが目的外組織へ、すなわち異所へ遊走することなく、移植された関節内に局在することを確認した。

軟骨細胞の培養には、温度応答性培養皿を用いる。温度応答性培養皿を用いると、温度降下のみで細胞を培養皿から回収できるため、細胞外マトリックス等を維持したままの高い機能を保持した細胞が回収でき、細胞をコンフルエントまで培養した場合、全細胞が連結した1枚の軟骨細胞シートとして回収することができる。得られた軟骨細胞シートは、培養の間に沈着した細胞外マトリックスを底面に保持したまま回収されるため、容易に他の表面に接着することができる。既に、細胞シートは皮膚・角膜・心筋など様々な分野で臨床応用されているが、本研究で用いる軟骨細胞シートは上皮系以外の細胞では、はじめてのものであり日本発世界初の先端技術を動員して、難治性の関節軟骨治療に適用するものである。

臨床研究の対象疾患

名称

外傷または変性により生じた膝関節軟骨損傷

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

選定理由	膝関節の軟骨損傷を有する疾患で、軟骨変性度の異なる患者に適用し、安全性と有効性を確認するために選定した。
被験者等の選定基準	<p>選択基準</p> <p>下記の選択基準を全て満たし、かつ同意能力を有する患者を対象とする。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 20歳から60歳までの性別を問わない患者。 ② 膝関節軟骨損傷を有するもの。 ③ 関節鏡所見で軟骨損傷が Outerbridge 分類(別添 2「研究実施計画書」17.臨床評価基準 参照) Grade III 以上のもの。 ④ 軟骨損傷を観血的整復固定術、靭帯再建術、高位脛骨骨切り術、関節鏡視下手術等の適応となるもの。 <p>除外基準</p> <p>下記の除外基準に1つでも当てはまる患者は対象としない。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 患者や御家族への特別な配慮が必要となり倫理的に困難な場合。 ② 重大な合併症を有している場合。 ③ 問題となるような感染症(HBV,HCV,HIV,HTLV, FTA-ABS 等の陽性を含む)を有している場合。
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	軟骨細胞および滑膜細胞
由来	自己 非自己・株化細胞 生体由来 死体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>○組織の採取</p> <p>対象患者に対して、細胞シート移植3週間前の関節鏡検査時と細胞シート移植時に、それぞれ事前に十分な時間をかけて患者本人と家族に対してインフォームドコンセントを行い、合計2回の同意書を取得して本臨床研究を行う。関節鏡検査時に軟骨損傷程度を確認し、その際に細胞シート作製のために必要な、滑膜(1g以上)と大腿側関節面非荷重部の軟骨(3g以上)を採取する。</p> <p>○細胞シート作製</p> <p>①細胞の単離</p> <p>軟骨細胞:50 mL 遠沈管①に生理食塩水を10 mL 入れ、しっかりフタをする。遠沈管①の重量を精密に量る。ディスポピンセットを用いて軟骨組織片を遠沈管①に入れ、遠沈管①の重量を測定する。組織湿重量[総重量(mg) - 風袋重量(mg)]mg を計算する。液を取り除き、生理食塩水を30 mL 入れ、よく振る(計2回繰り返す)。液を取り除き、生理食塩水を10 mL 入れる。組織片の入った遠沈管から組織片を10 cm ディッシュに液ごと移す。ディスポメスを用いて組織片を5 mm 角程度まで細切する。25 mL ピペットと生理食塩水を用い</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

		<p>て、50mL チューブに組織片を移す。</p> <p>50 mL 遠沈管 1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、5%コラゲナーゼ溶液を 30 mL 入れ、10 回ピペッティングする。溶液を 125 mL ボトルに移し、フタをゆるめに閉め振蕩しながら 37°Cでインキュベートする。インキュベート開始 2 時間後、酵素処理の進行度を確認する。融解が足りないようなら、引き続きインキュベートを行い、開始から4時間まで酵素処理を続ける。酵素処理終了後 100 μm セルストレイナーを通して、懸濁液を新しい遠沈管に入れ 1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、生食を 20 mL 入れ、10 回ピペッティングする。1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、生食を 20 mL 入れ、10 回ピペッティングし 1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、生食を 2 mL 入れ、10 回ピペッティングする。細胞懸濁液を 10 μL 採取し、トリパンプルー液 90μL とよく混ぜる。懸濁液を 10 μL 採取し血球計算盤で 4 区画の細胞数をカウントする。懸濁液の濃度 [4 区画の合計 \times 250] cells/mL を計算する。細胞数 [懸濁液の濃度(cells/mL) \times 2(mL)] cells を計算する。</p> <p>滑膜細胞:50 mL 遠沈管②に生理食塩水を 5 mL 入れ、しっかりフタをする。遠沈管②の重量を精密に量る。ディスポピンセットを用いて滑膜組織片を遠沈管に入れ、遠沈管の重量を測定する。組織湿重量[総重量(mg) - 風袋重量(mg)]mg を計算する。液を取り除き、生理食塩水を 30 mL 入れ、よく振る(計 2 回繰り返す)。液を取り除き、生理食塩水を 10 mL 入れる。組織片の入った遠沈管から組織片を 10 cm ティッシュに液ごと移す。ディスポメスを用いて組織片を 5 mm 角程度まで細切する。25 mL ピペットと生理食塩水を用いて、50mL チューブに組織片を移す。</p> <p>50 mL 遠沈管を 1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、5%コラゲナーゼ溶液を 30 mL 入れ、10 回ピペッティングする。溶液を 125 mL ボトルに移し、フタをゆるめに閉め振蕩しながら 37°Cでインキュベートする。インキュベート開始 1 時間後、酵素処理の進行度を確認する。融解が足りないようなら、引き続きインキュベートを行い、開始から 2 時間まで酵素処理を続ける。酵素処理終了後 100 μm セルストレイナーを通して、懸濁液を新しい遠沈管に入れ 1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、生食を 20 mL 入れ、10 回ピペッティングする。1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、生食を 20 mL 入れ、10 回ピペッティングし 1500rpm R.T.で 5 分間遠心する。上清を除き、生食を 2 mL 入れ、10 回ピペッティングする。細胞懸濁液を 10 μL 採取し、トリパンプルー液 90μL とよく混ぜる。懸濁液を 10 μL 採取し血球計算盤で 4 区画の細胞数をカウントする。懸濁液の濃度 [4 区画の合計 \times 250] cells/mL を計算する。細胞数 [懸濁液の濃度(cells/mL) \times 2(mL)] cells を計算する。</p> <p>②共培養(単層細胞シート作製)</p> <p>軟骨組織の分離工程前に、予め初回軟骨細胞培養用培地(「+20%FBS+</p>
--	--	--

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

		<p>ABJ)を温度 37±1°Cにてプレインキュベートしておく。プレインキュベートした培地内に温度応答性インサートを介して軟骨細胞 50000/cm² および滑膜細胞 10000/cm²を播種し、軟骨細胞・滑膜細胞を共培養する。炭酸ガス培養装置にて、温度 37±1°C、炭酸ガス濃度 5±1%、湿度 95±5%環境下にて3日間培養する。</p> <p>③積層化細胞シートの作製 プレート1枚を室温(R.T.)に30分間放置する。1枚目のプレートから培地を全て吸い取らないように取り除き、静かにPVDFサポートメンブレンを載せる。シートの端をPVDFサポートメンブレン上にまくりあげる。2枚目のプレートから培地を取り除く。1枚目のプレートの中央に培地を1000 μLマイクロピペットを用いて1滴垂らし、なじませる。1枚目のプレートからシートを剥離し、静かに2枚目のプレートに載せる。シートの端をPVDFサポートメンブレン上にまくりあげる。プレート1枚をインキュベーターから取り出し培地を取り除く。2枚目のプレートからシートを剥離し、静かに3枚目のプレートに載せる。シートの端をPVDFサポートメンブレン上にまくりあげる。3枚目のプレートからシートを剥離し、静かに10cmプレートに置く。シート中央にPTFEリング状ウェイトを載せる。培地を10 mL入れ、静かにインキュベーターに戻す。これを繰り返し、必要数の積層シートを作製する。</p> <p>○移植 3週間後作製された軟骨細胞シート(最終製品)を対象患者に対して計画された予定手術時に軟骨損傷部へ移植する。軟骨損傷部の大きさに合わせて、複数枚を移植する事もある。軟骨損傷部が不良組織で充填されている場合はこれを切除して、病巣部を洗浄した後、損傷部の直上に損傷部が覆われるように細胞シートを移植する。細胞シートを周辺組織へ縫合する操作は行わない。</p>
調製(加工)行程		有・ <input checked="" type="radio"/> 無
非自己由来材料使用		有・ <input checked="" type="radio"/> 動物種()
複数機関での実施		有・ <input checked="" type="radio"/>
他の医療機関への授与・販売		有・ <input checked="" type="radio"/>
安全性についての評価		<p>○細胞シートの安全性評価項目 患者由来細胞(自己細胞)から作製した細胞シートの移植前の安全性を確保するために、セルプロセッシング室(GPC)での製造前、製造中の中間試験、移植前日、及び最終製品の状態を評価するために、細胞形態観察、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、ウィルス否定試験、無菌性試験を検体提出日(検査日)に実施し、移植用組織としての安全性を確認する。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

(別添 2「研究実施計画書」8 研究の方法 5)評価項目の概要 参照。)

○非臨床安全性試験

(薬食発第 0208003 号 第 4 章「細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験」に係る項目)

細胞シートは、被験者由来の細胞を加工して作製し、被験者本人の体内に移植することを想定している。当加工により目的外の形質転換を起こしていないことを明らかにするため、培養期間を超えて培養した細胞について、以下のような試験を実施し、安全性を確認した。

1. CGH 解析

軟骨細胞を培養し通常の培養期間を超えても細胞に変化が認められないことを確認するため第 6 継代(P6)まで培養を行い第 2・4・6 継代(P2・P4・P6)での培養細胞の遺伝子レベルでの異常がないかを CGH 解析を用いて評価し、明らかなコピー数異常が生じないことを確認した。

2. 生体内での造腫瘍性について

培養軟骨細胞シートが生体内にて造腫瘍性を持たないことを確認するため、培養軟骨細胞シート由来の細胞をマウス皮下に移植し、腫瘍形成について観察を行った。

免疫不全マウスの皮下に軟骨細胞シート(1.6×10^6 cells/匹)、軟骨細胞シート+滑膜細胞(3.2×10^6 cells/)を 200 μ l の生理食塩水に懸濁した状態で 2 群に分けて注入した。評価は 9 週、12 週、24 週の期間で観察し移植部位を病理組織学的に観察した。9 週、12 週、24 週いずれの時期においても腫瘍形成は確認されなかったが、移植細胞自体も確認されなかった。

そこで、WHO の基準に則り免疫不全マウスの皮下に軟骨細胞(1.0×10^7 cells/匹)、軟骨細胞+滑膜細胞(2.0×10^7 cells/匹)を移植した。Sham 群も作製し計 3 群として 3 週、12 週で評価を行った。

長期的な造腫瘍性否定試験については、本製品の適用が局所的であることより、実験担当者が定期的に観察した。

試行 (識別 No.)	細胞シートの細胞数を基準とした 試験						WHO の基準に則った 試験				
	6 weeks		12 weeks		24 weeks		3 weeks		12 weeks		
	移植部	転移	移植部	転移	移植部	転移	移植部	転移	移植部	転移	
1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の実施が可能であると判断した理由

私共は、これまでに関節軟骨の修復・再生に関して基礎的研究を主に家兎並びにミニブタを用いて行なってきた。例えば、組織工学的手法による軟骨再生に適した担体作製に関する研究¹、至適細胞外環境の構築に関する研究^{2,3}、組織工学的に作製した軟骨の同種移植による修復・再生に関する研究^{6,7}、並びに軟骨細胞シート移植による軟骨修復・再生に関する研究^{6-8,11}などである。これらの研究から軟骨の修復・再生におけるホスト(レシピエント)側の細胞とドナー側の細胞との相互作用の重要性を確認し、組織修復・再生に必要な最小限の軟骨誘導イニシエーター(組織工学的軟骨)があれば、ホスト(レシピエント)側の細胞が主導的に修復促進することを見出した^{4,10}。そして、従来修復困難と考えられてきた関節軟骨部分損傷に対して、温度応答性培養皿で作製した積層化軟骨細胞シートによる関節軟骨修復再生効果を世界で初めて報告し⁶、修復能力に富んだ積層化軟骨細胞シートの特性を明らかにした^{7,12}。また、ミニブタを用いた全層欠損モデルにおいても軟骨修復効果を確認し、積層化細胞シートは関節軟骨部分損傷と全層欠損の双方に効果があることを確認した¹³。

以上の一連の研究により、変形性関節症において常に混在しながら存在する両タイプの軟骨損傷に対して、細胞シートによる治療効果を示したもので、細胞シート工学という日本オリジナルな技術により、将来的には、変形性関節症の治療にまで踏み込んだ軟骨再生医療として期待できるものである。

1) Sato M. et al, J Biomed Mater Res A 2003; 64(2):248-256. 2) Ishihara M. et al, Biomaterials 2002; 23(3):833-840. 3) Ishihara M. et al, J Biomed Mater Res 2001; 56(4):536-544. 4) Masuoka K. et al, J Biomed Mater Res B 2005; 75(1):177-84. 5) Sato M. et al, J Biomed Mater Res B 2007 Mar 23;83(1):181-8. 6) Kaneshiro K. et al. Biochem Biophys Res Commun. 2006 Oct 20; 349(2): 723-31. 7) Kaneshiro N, et. Al. Eur Cell Mater. 2007 May 22; 13: 87-92. 8) 国際出願番号 : PCT/JP2006/303759 出願日: 2006年2月28日 出願人:(株)セルシード, 発明者 : 佐藤正人他 9) Nagai T. et al, Tissue Engineering - Part A. 2008; 14 (7), 1183-1193. 10) Nagai T. et al, Tissue Engineering - Part A 2008; 14 (7):1225-1235. 11) Sato, M. et al Med Biol Eng Comput. 2008; 46 (8):735-743. 12) Mitani, G. et al BMC Biotechnology 2009 9:17 13) Sato, M. et al J Jpn Orthop Assoc 2008 82(8) S930.

動物を対象とした前臨床試験により細胞シートの有効性を確認でき、新規治療法となり得ることが期待されたため、平成21年10月以降東海大学医の倫理委員会の承認の下、「細胞シートの安全性並びに性状評価に関する研究」を実施してきた(別添8「製品標準書参照」)。その結果、患者由来細胞を使用して作製した移植用培養組織としての細胞シートの安全性の確認と製造方法が確定できた。実際にセルプロセッシング室内でヒト培養軟骨細胞シートの試験製造を2度に渡り実施しており、医の倫理委員会の承認も得られ

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>た。</p> <p>よって、本臨床研究が実施可能であると判断した。</p>
臨床研究の実施計画	<p>対象疾患: 外傷または変性により生じた膝関節軟骨損傷</p> <p>方法: 対象患者に対して、細胞シート移植 3 週間前の関節鏡検査時と細胞シート移植時に、それぞれ事前に十分な時間をかけて患者本人と家族に対してインフォームドコンセントを行い、合計 2 回の同意書を取得して本臨床研究を行う。</p> <p>関節鏡検査時に軟骨損傷程度を確認し、その際に細胞シート作製のために必要な、滑膜(1g 以上)と大腿側関節面非荷重部の軟骨(3g 以上)を採取する。手術室からセルプロセッシング室へ採取した組織を運搬し、同室内で細胞を単離し、温度応答性培養皿を用いて細胞シートを作製する。</p> <p>3 週間後作製された軟骨細胞シート(最終製品)を対象患者に対して計画された予定手術時に軟骨損傷部へ移植する。軟骨損傷部の大きさに合わせて、複数枚を移植する事もある。軟骨損傷部が不良組織で充填されている場合はこれを切除して、病巣部を洗浄した後、損傷部の直上に損傷部が覆われるように細胞シートを移植する。</p> <p>評価項目:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.安全性: 有害事象の発生の有無 2.有効性: 術前、術後 1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、1 年における臨床評価、単純レントゲン写真、MRI 検査。術後 1 年の時点での関節鏡、超音波法、病理検査による評価(別添 2「研究実施計画書」9 術後検査・評価項目とスケジュール参照)。 <p>エンドポイント: 細胞シート移植後 1 年まで</p> <p>研究実施予定期間: 承認後～3 年間</p> <p>予定症例数: 10 例</p> <p>東海大学医学部付属病院における年間の関節軟骨損傷に対する手術件数は 30 例程度であるが、選択基準等を鑑み、また培養期間に約 3 週間を要し、この間クロスコンタミネーションの防止からセルプロセッシング室には他の被験者の細胞を持ちこまないように実施するため、当該実施期間で適当と思われる症例数を目標症例数とした。なお、プライマリーエンドポイントである安全性の評価が十分に達成できたと判断した場合、本臨床研究は、予定症例数に達しなくても終了する。</p>
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	<p>1)被験者の選定</p> <p>研究責任医師及び分担医師は、被験者の健康状態、症状、年齢、同意能力等を考慮し、被験者を本臨床試験の対象とすることの適否を慎重に検討す</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>る。</p> <p>2)同意取得 研究責任医師及び分担医師は、本臨床試験の対象として適切と判断した被験者に対して、本臨床試験の説明を十分に行い、文書による同意を取得する。</p> <p>3)適格性判定 研究責任医師及び分担医師は、「選択規準」及び「除外規準」に基づく検査を実施し、適格性を判定する。</p> <p style="padding-left: 40px;">諸検査の結果、対象者となりえると判断された場合、入院後、病棟において、本人並びに家族へ説明書と各種画像並びに動画等を用いたコンピュータプレゼンテーションを併用して、術前関節鏡検査施行前と細胞シート移植前に、十分なインフォームドコンセントを実施し、2回の同意を確認する。</p>
<p>説明事項</p>	<p>以下の項目について説明する。(別添 3「同意書参照」)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.臨床研究とは 2.細胞シートについて 3.臨床研究の目的 4.臨床研究に参加していただく患者さまの人数及び臨床研究期間 5.臨床研究の方法 6.あなたに守っていただきたいこと 7.予想される効果(利益)及び副作用(不利益) 8.臨床研究への参加の自由と参加のとりやめについて 9.他の治療方法について 10.臨床研究が中止される場合 11.細胞シートに関する新しい情報の提供について 12.あなたの人権・プライバシーの保護について 13.臨床研究に関連して健康被害が発生した場合の治療及び補償について 14.費用の負担について 15.利益相反について 16.この臨床研究を担当する医師の氏名、連絡先
<p>単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者等とする臨床研究の場合</p>	
<p>研究が必要不可欠である理由</p>	<p>単独でインフォームドコンセントを与えることが困難な者を被験者とはしない。</p>
<p>代諾者の選定方針</p>	<p>単独でインフォームドコンセントを与えることが困難な者を被験者とはしないため代諾者は選定しない。</p>
<p>被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法</p>	<p>有害事象取り扱い</p> <ol style="list-style-type: none"> 1)症状または疾患 <p>手術後に発現した、あらゆる好ましくないあるいは意図しない徴候、症状また</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

は疾患は、有害事象として取り扱う。合併症の程度が悪化した場合も、有害事象として取り扱う。なお、有効性評価指標の程度が悪化した場合は、有害事象として扱わない。

2) 他覚所見

臨床研究開始前検査値*と比較し、最終検査日までに、異常化(正常→異常、異常→さらに異常)を示した場合は、有害事象として取り扱う。また、臨床研究開始前検査値*が欠測しており、細胞移植投与後に異常値となった場合は、有害事象として取り扱う。ただし、欠測している場合は、同意取得日の30日前までの値を判断の参考値として利用する。

*:同意取得後、観察期に実施された検査値(複数回実施されたものは、治療期開始時に近い値とする)

本研究実施計画書に規定された項目、規定されていない項目を問わず、有害事象とされたものについては、発現時、最大悪化時、転帰判定時及び関連性の判定に必要と考えられたデータについてカルテに記載する。

3) 有害事象の記録と調査

有害事象が発現した場合は、その症状または疾患、他覚所見の内容、発現日、程度、重篤度、処置の有無およびその内容、転帰およびその判定日、本臨床研究との関連性およびその理由をカルテに記載する。なお、疾患名を記載する場合、その疾患に付随する症状は、有害事象として記載しない。

治療中に観察された症状または疾患、他覚所見において、有害事象が認められた場合は、本臨床研究との因果関係の有無に係わらず、原則として正常化または有害事象として促えないレベルに回復するまで追跡調査を行う。ただし、研究責任医師または分担医師が回復と判断した場合はその限りではない。その場合は回復と判断した根拠をカルテに記載するものとする。器質的な障害(脳梗塞・心筋梗塞など)で不可逆的な有害事象が認められた場合は、症状が安定または固定するまで追跡調査を行うこととする。

4) 有害事象の分類

有害事象の程度は、以下の基準で分類する。

- ①軽度:患者の日常生活を損なわない程度
- ②中等度:患者の日常生活に支障があるが、かなり我慢すれば活動が行える程度
- ③高度:患者の日常生活の遂行を大きく妨げる程度

有害事象の転帰は、以下の基準で分類する。

- ①回復:正常化または有害事象として促えないレベルまでに回復したもの
- ②継続:その時点で回復に至っていないもの
- ③不明(死亡):患者死亡のため転帰が不明だったもの

5) 有害事象と本臨床研究との関連性の判定

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>本臨床研究との関連性は、被験者の状態、治療との時間関係、その他の要因による可能性等を勘案し、以下の関連性の判定基準に従い判定する。</p> <p>①明らかに関連あり ②おそらく関連あり ③関連があるかもしれない ④関連なし</p> <p>有害事象については、本臨床研究との関連性が①～③と判定されたものを本臨床研究との関連性が否定できない有害事象、本臨床研究との関連性が④と判定されたものを本研究との関連性が否定できる有害事象とする。</p> <p>6) 重篤な有害事象 治療中に、本臨床研究との因果関係の有無にかかわらず重篤な有害事象が発現した場合、研究責任医師または研究分担医師は、被験者に対して直ちに適切な処置を行う。研究責任医師は、速やかに医学部長、病院長及び医の倫理委員長に報告する。また、本臨床研究が10例に満たなくても、研究を中止する。</p> <p>【重篤な有害事象】</p> <p>1) 死亡 2) 死亡につながる恐れのある症例 3) 障害 4) 障害につながる恐れのある症例 5) 1)から4)に掲げる症例に準じて重篤である症例 6) 後世代における先天性疾病または異常</p> <p>7) 新たな情報の提供 実施者は本臨床研究の安全性に関する新たな情報を得た場合には、速やかに病院長、医学部長、臨床研究責任医師および分担医師に文書で報告する。臨床研究責任医師および分担医師は被験者へ追加説明し、必要に応じて説明文書・同意文書の改定を行う。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	通常の手術療法と同様に、術後3年間は定期的に外来診療を行い、安全性及び有効性に係る情報を収集する。
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	④ 無
補償が有る場合、その内容	臨床研究賠償責任保険に加入しており、その補償範囲内での補償が可能である。
個人情報保護の方法	

ヒト 幹 細 胞 臨 床 研 究 実 施 計 画 書

<p>連結可能匿名化の方法</p>	<p>細胞シートの作製は、被験者を一人ずつ行うので、臨床研究責任者及び研究分担者を含めて整形外科に所属する医師は全て被験者が誰であるかを知ってしまう事、また、臨床データ(カルテ情報や術前術後の検査データ、画像データ)は全て電子カルテに保存されるので、患者情報に関しては、東海大学医学部付属病院に勤務している医師であれば、業務上アクセス可能なものである為、本臨床研究に特化した匿名化は行わない。しかし、一般の入院患者と同様の匿名性は維持されており、個人情報の管理は患者IDによって管理される。また、臨床試験終了後のデータ等は連結可能匿名化し、臨床データの解析や学会発表時などには、個人情報の保護に努め、被験者のプライバシーを保護する。</p>
<p>その他</p>	<p>本研究で得られた細胞は手術でしか得られない大変な貴重なものであり、本研究終了後に余剰となった試料(軟骨細胞、滑膜細胞)は、被験者の同意を得た上で(同意書参照)、連結不可能匿名化して他の研究に用いることがある。</p>
<p>その他必要な事項 (細則を確認してください)</p>	<p>① 当該研究に係る研究資金の調達方法</p> <p>本臨床研究は、厚生労働省科学研究補助金 再生医療実用化研究事業からの研究資金を充てるものとする。</p> <p>② 既に実施されているヒト幹細胞臨床研究と比較して新規性が認められる事項</p> <p>自己細胞を使用した軟骨再生医療に関しては、国外では既に20年近く前から、Genzyme 社の Autologous Chondrocyte Implantation(ACI)が既に2万例近く世界で実施されているが、小さな軟骨欠損にのみ適用されている。この手法では骨膜を使用するため、その石灰化や肥厚がしばしば問題になっている。さらに健常部を2箇所犠牲にするなど手術的側面からも問題が多く、治療成績も骨髄刺激法と有意差がないとする報告もあり、評価は分かれている。国内では、広島大学で考案したアテロコラーゲンゲル包埋培養軟骨細胞移植法を J-TEC が治験をほぼ終了し、保険収載前段階にある。信州大学では、Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復が臨床応用されている。しかしながら、いずれも骨膜を使用して、小さな軟骨欠損に適用されるもので従来の ACI と同様の問題点を抱えている。</p> <p>当該研究の新規性は下記4点である。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・細胞シートによる関節軟骨再生医療(上皮系以外の組織で世界初)である。 ・骨膜を使用しない。 ・変形性関節症で常に混在する2種類の軟骨損傷型(全層欠損と部分損傷)の両方での有効性を動物実験で確認している。 ・従来から行われている外傷性の軟骨損傷だけでなく、変性による軟骨損傷にも適用する。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格 A4とすること。

備考2 本様式中に書ききれない場合は、適宜別紙を使用し、本様式に「別紙〇参照」と記載すること。

添付書類(添付した書類にチェックを入れること)

- 研究者の略歴及び研究業績(別紙1、別紙2)
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況(別添12:GPC 概要、別添13:衛生管理基準書、別添14:バリデーション基準書)
- 臨床研究に用いるヒト幹細胞の品質等に関する研究成果(別紙3)
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況(別紙4)
- 臨床研究の概要をできる限り平易な用語を用いて記載した要旨(別紙5)
- インフォームド・コンセントにおける説明文書及び同意文書様式(別添3:同意書)
- その他(資料内容:別紙6:倫理委員会の承認書)
- その他(資料内容:別添1:臨床研究等審査申請書)
- その他(資料内容:別添2:研究実施計画書)
- その他(資料内容:別添4:臨床研究責任者・分担者・協力者・履歴書)
- その他(資料内容:別添5:臨床研究業務分担リスト)
- その他(資料内容:別添6:参考文献)
- その他(資料内容:別添7:東海大学伊勢原キャンパス利益相反マネジメント委員会;臨床研究等に係る利益相反自己申告書)
- その他(資料内容:別添8:ヒト培養軟骨細胞シート製品標準書)
- その他(資料内容:別添9:ヒト培養軟骨細胞シート作業標準書)
- その他(資料内容:別添10:ヒト培養軟骨シート品質検査標準書・記録書)
- その他(資料内容:別添11:細胞移植再生医療運営委員会活動報告・委員会名簿)
- その他(資料内容:別添15:逸脱管理手順書)

研究の概要

1. 目的

膝関節軟骨損傷患者を対象として、関節内組織より単離した細胞を、温度応答性培養皿を用いて培養し、細胞シートを作製し、軟骨損傷が生じている部位へ移植する。この新規治療法の客観的評価をプライマリーエンドポイントとして安全性を評価し、セカンダリーエンドポイントとして有効性を画像的・臨床的評価方法により実施する。

2. 研究対象

外傷または変性により生じた膝関節軟骨損傷

3. 研究方法

術前の関節鏡検査時に、上記診断を確定すると共に、滑膜と軟骨を少量採取する。採取した組織をセルプロセッシング室へ運搬し、そこで細胞を単離後、温度応答性培養皿へ播種して細胞シートを作製する（ヒト培養軟骨細胞シート製品標準書及び品質管理標準書・記録書参照）。軟骨損傷部の不良組織を切除し洗浄後、細胞シートを移植する。術後評価としては、臨床評価基準をもとに評価する。また、単純レントゲン写真、MRI、関節鏡、レーザー誘起光音響法、生検による病理検査などを術後プロトコールに従って実施し、術後の軟骨再生状態を評価する。

4. 研究期間および予定症例数

承認後から3年間

10症例

*プライマリーエンドポイントである安全性の評価が十分に達成できたと判断した場合、本臨床研究は、予定症例数に達しなくても終了する。

5. 研究組織

東海大学医学部外科学系整形外科学

東海大学医学部基盤診療学系再生医療科

東海大学医学部附属病院整形外科

東海大学医学部附属病院診療協力部セルプロセッシング室

細胞シートによる関節軟骨修復・再生

